



**PENGARUH PROTEKSI PROTEIN AMPAS KECAP DENGAN TANIN
TERHADAP KONSENTRASI AMONIA, PRODUKSI PROTEIN TOTAL
DAN PERSENTASE RUMEN UNDEGRADED DIETARY PROTEIN
SECARA IN VITRO**

**Effect Tannin to Protection of Soy Pulp Protein on Ammonia Concentration,
Total Protein Production and Percentage of Rumen Undegraded Dietary
Protein In Vitro**

N. S. Mayangsari, A. Subrata dan M. Christiyanto

Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh level penambahan tanin daun mangrove untuk memproteksi protein ampas kecap terhadap konsentrasi amonia (NH_3), produksi protein total dan persentase *rumen undegraded dietary protein* (RUDP) secara *in vitro*. Materi yang digunakan adalah ampas kecap, daun mangrove sebagai sumber tanin alami, cairan rumen dan reagensia yang digunakan dalam analisis NH_3 , protein total dan RUDP. Parameter yang diamati adalah konsentrasi NH_3 , produksi protein total dan persentase RUDP. Penelitian dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan adalah T0 (ampas kecap + tanpa tanin), T1 (ampas kecap + tanin 0,25%), T2 (ampas kecap + tanin 0,50%), T3 (ampas kecap + tanin 0,75%). Hasil penelitian diolah secara statistik dengan analisis sidik ragam dan jika terdapat pengaruh nyata akibat perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan taraf 5% untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh antar perlakuan. Hasil penelitian didapatkan konsentrasi NH_3 protein ampas kecap terproteksi dengan perbedaan aras tanin berturut-turut adalah 4,34; 3,46; 3,29; 3,10 mM. Produksi protein total yang dihasilkan berturut-turut adalah 315,37; 330,05; 334,04; 304,45 mg/g. Persentase RUDP yang dihasilkan berturut-turut adalah 27,91; 27,96; 28,03; 27,36 %. Hasil uji variansi menunjukkan bahwa proteksi protein ampas kecap menggunakan tanin mangrove berpengaruh terhadap konsentrasi NH_3 namun tidak berpengaruh terhadap produksi protein total dan persentase RUDP. Hasil uji lanjut DMRT menunjukkan bahwa konsentrasi NH_3 pada perlakuan T0 nyata lebih tinggi ($p < 0,05$) dari T1, T2 dan T3 sedangkan T1, T2 dan T3 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa proteksi protein ampas kecap menggunakan tanin daun mangrove terbukti menurunkan konsentrasi amonia (NH_3) tetapi tidak mempengaruhi produksi protein total dan persentase RUDPnya.

Kata kunci: ampas kecap; tanin; amonia; protein total

ABSTRACT

The aimed of this research was to determine the effect of level tannin of mangrove leaf to protected soy pulp protein on ammonia concentration (NH_3), total protein production and percentage of rumen undegraded dietary protein (RUDP) in vitro. The material used is soy pulp, mangroves leaves as a natural source of tannins, rumen liquor and reagents used in the analysis of NH_3 , total protein and RUDP. Parameters measured were NH_3 concentrations, total protein production and percentage of RUDP. The experiment was conducted used a completely randomized designed with 4 treatments and 4 replications. Treatments are T0 (soy pulp + without tannin), T1 (soy pulp + tannin 0.25%), T2 (soy pulp + tannin 0.50%), T3 (soy pulp + tannin 0.75%). The results were analyzed statistically by variance analysis, and if there is a real effect due to treatment followed by Duncan test at 5% level to detect a difference between treatment effects. The results obtained NH_3 concentration of soy pulp protein protected with different tannin are 4.34; 3.46; 3.29; 3.10 mM. The results total protein production are 315.37; 330.05; 334.04; 304.45 mg/g. The results percentage RUDP are 27.91; 27.96; 28.03; 27.36%. The variant test results showed that the protective soy pulp protein used mangrove tannin significantly decrease NH_3 concentrations, but no significantly on total protein production and percentage RUDP. The DMRT test result showed that NH_3 concentrations on T0 significantly higher ($p < 0.05$) from T1, T2 and T3 while T1, T2 and T3 not significantly different ($p > 0.05$). From the results of this research concluded that the protection of soy pulp protein used mangrove leaves tannin proven to decrease ammonia concentration (NH_3) but did not affected to total protein production and percentage RUDP.

Keywords: soy pulp; tannin; ammonia; total protein

PENDAHULUAN

Pakan yang baik adalah yang mengandung zat pakan yang lengkap dan memadai baik kualitas dan kuantitasnya, seperti energi, protein, lemak, mineral serta vitamin. Zat pakan tersebut dibutuhkan dalam jumlah yang tepat dan seimbang sehingga dapat menghasilkan produk ternak yang optimal dan berkualitas. Pakan ruminansia yang berkualitas ditentukan oleh tingkat ketersediaan protein pakan yang mampu memberikan kontribusi pada perkembangbiakan mikrobial dalam rumen dan mampu mensuplai protein pakan di *intestinum*. Kebutuhan ternak akan protein dipenuhi dari tiga sumber yaitu protein yang berasal dari mikroba rumen, protein pakan dan protein yang berasal dari luruhan saluran pencernaan. Laju degradasi protein di dalam rumen cukup tinggi untuk itu diperlukan tanin untuk memproteksi bahan pakan bersumber protein, dalam hal ini ampas kecap.

Ampas kecap dihasilkan sebesar 59,7% dari bahan baku kedelai setelah mengalami proses fermentasi. Ampas kecap cukup disukai oleh ternak. Ampas kecap berasal dari kedelai sehingga nutrisi yang terdapat pada ampas kecap adalah

sama dengan kedelai hanya konsentrasinya lebih sedikit karena telah mengalami pengolahan. Setelah proses fermentasi, 65% protein masih tertinggal pada ampas kecap. Protein yang tertinggal pada ampas kecap kebanyakan berasal dari protein biji kedelai. Ampas kecap dapat digolongkan sebagai sumber protein karena mengandung protein kasar lebih dari 18% (Santoso, 1998). Menurut Sutardi *et al.* (1983), ampas kecap memiliki laju degradasi protein yang cukup tinggi sebesar 3,85%/jam sehingga perlu diproteksi supaya protein yang terkandung di dalamnya dapat dimanfaatkan oleh ternak.

Tanin merupakan senyawa yang dapat dipergunakan untuk melindungi protein pakan dari degradasi yang berlebihan di dalam rumen. Tanin diklasifikasikan dalam dua kelompok, yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi (Makkar, 2003). Tanin terkondensasi secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (Harborne, 1987).

Tanin terkondensasi mengikat protein dengan ikatan hidrogen yang sensitif terhadap perubahan pH. Tanin terkondensasi akan berikatan stabil dengan protein pada pH 4 – 7 di dalam rumen, sedangkan pada pH di bawah 4 (asam) dan pH di atas 7 (basa) ikatan tanin dengan protein akan terlepas. Diharapkan tanin mampu melindungi protein dari degradasi dalam rumen, namun masih dapat dimanfaatkan bagi ternak pada saluran pencernaan pasca rumen yaitu di abomasum dan di dalam intestinum (Sasongko *et al.*, 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh level penambahan tanin terkondensasi daun mangrove untuk memproteksi protein ampas kecap terhadap nilai konsentrasi amonia, produksi protein total dan persentase *rumen undegraded dietary protein* (RUDP) secara *in vitro*.

MATERI DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Makanan Ternak, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Materi yang digunakan untuk penelitian adalah ampas kecap, tanin daun mangrove dan kit reagensia untuk *in vitro*. Peralatan yang digunakan adalah *beaker glass*, tabung fermentor, *waterbath*, labu takar 500 ml, labu destruksi, peralatan titrasi, *stirrer*, kertas saring *Whatmann* 41, kertas saring bebas abu, batang pengaduk, *crusible porcelain*, gelas ukur, timbangan analitis, cawan petri, Erlenmeyer, corong, oven, alat destilasi beserta pendingin *Leibig*, penangas air, cawan *Conway*, pipet 1 ml, pipet 2 ml, pipet 5 ml dan alat tulis.

Metode

Penelitian untuk mengkaji upaya proteksi protein ampas kecap sebagai sumber protein ruminansia dengan menggunakan tanin yang bersumber dari daun mangrove dilaksanakan dalam tiga tahap kegiatan. Tahap pertama adalah

ekstraksi tanin daun mangrove. Langkah yang dilakukan yaitu daun mangrove digiling sampai halus kemudian masukkan ke dalam *beaker glass* dan ditambahkan alkohol 96% dengan perbandingan 1 : 3 (50 g sampel : 150 ml pelarut) dan didiamkan selama 12 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring dengan menggunakan kain bersih. Selanjutnya diuapkan hingga ekstrak lebih pekat kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C untuk memperoleh kristal tanin.

Kadar ekstrak tanin ditentukan berdasarkan bobot kering oven yaitu dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Kadar Ekstrak (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk kering oven}} \times 100\%$$

Penentuan kadar tanin terkondensasi ditentukan dengan menggunakan ekstrak kering oven dengan cara memasukkan 5 g ekstrak tanin ke dalam *beaker glass* yang telah berisi 175 ml aquades, kemudian diaduk hingga homogen. Kemudian larutan tersebut ditambahkan 28,5 ml HCl (0,28 N) dan 1 ml larutan formaldehid (37%), lalu diaduk selama 5 menit. Kemudian endapan disaring dengan kertas saring menggunakan pompa vakum, kemudian dibilas dengan aquades. Endapan dikeringkan dalam oven dan ditimbang bobotnya. Kadar tanin terkondensasi dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Kadar Tanin Terkondensasi (\%)} = \frac{\text{bobot endapan}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

Tahap kedua adalah proses proteksi protein ampas kecap sebagai pakan sumber protein dengan menggunakan tanin terkondensasi sebagai bahan proteksi. Bahan proteksi yang dipakai adalah tanin yang bersumber dari daun mangrove. Setelah diketahui kadar tanin terkondensasi dari ekstrak daun mangrove selanjutnya digunakan untuk proteksi ampas kecap dengan aras yang telah ditentukan. Aras penambahan tanin yang digunakan dalam penelitian ini adalah bobot per bobot dikalikan bahan keringnya (BK) yaitu 0%, 0,25%, 0,50% dan 0,75%. Aras 0% digunakan sebagai kontrol. Penambahan tanin pada ampas kecap dilakukan dengan cara melarutkan tanin dengan aquades 5 ml kemudian larutan tersebut disemprotkan ke sampel sesuai dengan kebutuhan aras tanin menggunakan sprayer sambil diaduk hingga bercampur secara homogen kemudian dikering udarakan.

Tahap ketiga yaitu untuk melihat tingkat proteksi protein ampas kecap, dilakukan uji fermentabilitas secara *in vitro*. Parameter yang diukur meliputi konsentrasi NH₃, produksi protein total dan persentase RUDP. Langkah pertama yang dilakukan setelah fermentasi selama 3 jam adalah mengambil larutan, kemudian digunakan untuk analisis NH₃ dan protein total. Larutan kemudian dilakukan sentrifugasi selama 8-10 menit yang selanjutnya digunakan untuk analisis NH₃ menggunakan metode mikrodifusi *conway* dan analisis protein total menggunakan metode Kjeldahl. Langkah selanjutnya mengambil larutan setelah fermentasi selama 48 jam kemudian residu disaring dengan bantuan pompa vakum kemudian residu dicuci menggunakan aquades dan dioven selama 24 jam kemudian dilakukan analisis RUDP menggunakan metode Kjeldahl.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Percobaan terdiri atas empat perlakuan dengan empat ulangan. Aras tanin 0% digunakan sebagai kontrol perlakuan. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam, apabila terdapat pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan *Duncan multiple range test* (DMRT) untuk melihat beda antar nilai tengah perlakuan. Perlakuan yang dicobakan adalah:

T0 = Ampas kecap + aras tanin 0%

T1 = Ampas kecap + aras tanin 0,25%

T2 = Ampas kecap + aras tanin 0,50%

T3 = Ampas kecap + aras tanin 0,75%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian proteksi protein ampas kecap dengan perbedaan penambahan aras tanin terhadap konsentrasi amonia (NH_3), produksi protein total dan persentase *rumen undegraded dietary protein* (RUDP) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi NH_3 , Produksi Protein Total dan Persentase RUDP Ampas Kecap Terproteksi Tanin Daun Mangrove secara *In Vitro*

Perlakuan	NH_3	Protein Total	RUDP
	---mM---	---mg/g---	---%---
T0	4,34 ^a	315,37	27,91
T1	3,46 ^b	330,05	27,96
T2	3,29 ^b	334,04	28,03
T3	3,10 ^b	304,45	27,36

Keterangan: Superskrip dengan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Konsentrasi NH_3 Rumen

Konsentrasi NH_3 protein ampas kecap terproteksi dengan perbedaan aras tanin berturut-turut adalah 4,34; 3,46; 3,29; 3,10 mM. Penambahan tanin nyata menurunkan konsentrasi NH_3 . Konsentrasi NH_3 yang tertinggi yaitu pada perlakuan T0 (ampas kecap + 0% tanin) yaitu sebesar 4,34 mM dan konsentrasi NH_3 terendah yaitu pada perlakuan T3 (ampas kecap + 0,75% tanin) yaitu sebesar 3,10 mM.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa adanya pengaruh perlakuan (perbedaan aras tanin yang digunakan untuk memproteksi protein ampas kecap) terhadap konsentrasi NH_3 pada ampas kecap. Penambahan tanin 0,25% mampu

menurunkan konsentrasi NH_3 , tetapi peningkatan aras tanin sampai 0,75% tidak menyebabkan penurunan lebih lanjut.

Penurunan konsentrasi amonia dalam hasil penelitian ini dikarenakan tanin mampu memproteksi protein dari degradasi rumen. Penurunan tersebut menunjukkan menurunnya protein yang terdegradasi atau meningkatnya protein *by pass* (Prasetyono, 2008). Ranjhan (1980), berpendapat bahwa faktor yang mempengaruhi konsentrasi amonia adalah kadar protein pakan, kelarutan protein, sumber dan proporsi karbohidrat terlarut, sedangkan menurut Prayitno (2010), faktor yang mempengaruhi konsentrasi NH_3 adalah tingkat degradabilitas protein bahan pakan dan protein yang tahan terhadap degradasi mikroba rumen.

Produksi Protein Total

Protein total adalah gabungan dari protein pakan yang lolos dari degradasi rumen dan protein mikrobial. Protein mikrobial berasal dari mikrobial yang terbawa bersama pakan keluar rumen ke saluran pencernaan pasca rumen. Protein mikrobial berhubungan dengan pertumbuhan mikrobial dalam rumen. Produksi protein mikrobial rumen dipengaruhi oleh konsentrasi amonia karena bersama-sama dengan VFA (*volatile fatty acids*), merupakan bahan utama pembentuk protein tubuh mikroba rumen (Ridwan, 2006).

Produksi protein total yang dihasilkan dengan perbedaan aras tanin 0%; 0,25%; 0,5%; 0,75% berturut-turut adalah 315,37; 330,05; 334,04; 304,45 mg/g. Hasil analisis variansi terhadap nilai produksi protein total menunjukkan bahwa aras tanin sampai 0,75% tidak berpengaruh terhadap produksi protein total. Hal ini disebabkan karena ampas kecap adalah hasil akhir pembuatan kecap yang telah mengalami beberapa kali proses pengolahan sehingga kandungan protein di dalam ampas kecap berkurang telah mengalami denaturasi. Sesuai dengan pendapat Santoso (1998) bahwa proses perendaman dan pemanasan pada ampas kecap yang berulang kali dapat menyebabkan *browning* dan denaturasi protein. Protein yang mengalami denaturasi dan reaksi *browning* relatif tahan terhadap degradasi dalam rumen. Oleh sebab itu, ampas kecap tidak perlu diproteksi lagi karena sudah tahan degradasi. Salah satu cara menurunkan degradasi dalam rumen yaitu *browning* dan denaturasi protein.

Persentase Rumen Undegraded Dietary Protein (RUDP)

Persentase RUDP ampas kecap pada perlakuan T0 sebesar 27,91%, pada perlakuan T1 sebesar 27,96%, pada perlakuan T2 sebesar 28,03% dan pada perlakuan T3 sebesar 27,36%. Hasil analisis variansi terhadap nilai persentase RUDP menunjukkan bahwa aras tanin sampai 0,75% tidak berpengaruh terhadap persentase RUDP. Rata-rata persentase RUDP ampas kecap pada perlakuan T0, T1, T2 dan T3 yang relatif sama disebabkan oleh mikroba mendegradasi protein ampas kecap relatif sama pada seluruh perlakuan. Persentase RUDP yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) seiring dengan penambahan aras tanin mengindikasikan bahwa proteksi tanin pada ampas kecap tidak mampu melindungi protein dari degradasi di dalam rumen. Hal ini disebabkan karena pada dasarnya ampas kecap

tidak perlu lagi diproteksi. Sesuai dengan pendapat Santoso (1998) yang menyatakan bahwa proses perendaman dan pemanasan pada ampas kecap yang berulang kali dapat menyebabkan *browning* dan denaturasi protein.

Konsentrasi NH_3 rumen yang menurun seharusnya menyebabkan persentase RUDP naik tetapi pada perlakuan persentase RUDP tidak mengalami kenaikan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh pengukuran persentase RUDP selama 48 jam sedangkan pengukuran konsentrasi NH_3 rumen selama 3 jam, sehingga persentase RUDP tidak signifikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Lubis (1992) yang menyatakan bahwa pengukuran degradasi dalam rumen sangat ditentukan oleh faktor kelarutan bahan pakan dan waktu inkubasi. Degradabilitas dapat dijadikan salah satu indikator dalam menentukan kualitas ransum. Laju degradasi protein dan bahan organik yang bervariasi dipengaruhi oleh perbedaan kandungan nutrisi (protein atau bahan organik), tipe protein (struktur dan kelarutan protein), interaksi nutrisi khususnya karbohidrat dalam beberapa pakan atau dalam rumen dan kandungan serat kasar (Hermon, 2009).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa proteksi protein ampas kecap menggunakan tanin daun mangrove nyata menurunkan konsentrasi amonia (NH_3) pada 3 jam inkubasi tetapi tidak mempengaruhi produksi protein total dan persentase RUDP nya.

Saran

Proteksi protein ampas kecap dengan tanin sampai aras 0,75% belum efektif melindungi protein dari degradasi yang berlebihan di dalam rumen. Ampas kecap sebaiknya tidak diproteksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun cara Modern Menganalisis Tumbuhan. ITB. Bandung.
- Hermon. 2009. Indeks Sinkronisasi Pelepasan N-Protein dan Energi dalam Rumen sebagai Basis Formulasi Ransum Ternak Ruminansia dengan Bahan Lokal. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor. (Disertasi)
- Lubis, M. H. 1992. Laju Degradasi Bahan Kering dan Bahan Organik *Setaria splendida*, Rumput Lapang dan Alang-alang (*Imperata cylindrica*) dengan Teknik *In Situ*. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor. (Skripsi)
- Makkar, H. P. S. 2003. Effect and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effect of feeding tannin – rich feeds. *Small Ruminant Research*. **49**: 241–256.

- Prasetyono, B. W. 2008. Rekayasa Suplemen Protein pada Ransum Sapi Pedaging Berbasis Jerami dan Dedak Padi. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, Bogor. (Disertasi)
- Prayitno, R. S. 2010. Pengaruh Suplementasi Sumber Protein Hijauan Leguminosa terhadap Produksi Amonia dan Protein Total Ruminal Secara In Vitro. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang. (Skripsi)
- Ranjhan, S. K. 1980. Animal Nutrition in Tropics. 2nd Edition. Vikas Publishing House. Pvt. Ltd., New Delhi.
- Ridwan, A. A. 2006. Perubahan-Perubahan Protein yang Diakibatkan oleh Proses Pengolahan Daging Domba. Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor. (Skripsi)
- Santoso. 1998. Kecap dan Tauco Kedelai. Kanisius. Yogyakarta.
- Sasongko, W. T., L. M. Yusiati, Z. Bachruddin dan Mugiono. 2010. Optimalisasi Peningkatan Tanin Daun Nangka dengan Protein Bovine Serum Albumin. Buletin Peternakan **34** (3): 154-158.
- Sutardi, T., N. A. Sigit, dan T. Toharmat. 1983. Standardisasi Mutu Protein Bahan Makanan Ruminansia Berdasarkan Parameter Metabolismenya oleh Mikroba Rumen. Laporan Penelitian Direktorat Pembinaan dan Pengabdian pada Masyarakat. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.